

## EFEITO DA $\alpha$ -FENILSELENO ACETOFENONA NO COMPORTAMENTO DO TIPO-DEPRESSIVO INDUZIDO PELO FATOR DE NECROSE TUMORAL $\alpha$ EM CAMUNDONGOS

RODRIGO PRATO PINTO<sup>1</sup>; FERNANDA SEVERO SABEDRA SOUSA<sup>2</sup>,  
RODOLFO BALDINOTTI<sup>2</sup>, MARIANA G. FRONZA<sup>2</sup>, RENATA BALAGUEZ<sup>4</sup>,  
LUCIELLI SAVEGNAGO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Grupo de pesquisa em Neurobiotecnologia da Universidade Federal de Pelotas –  
rodrigommd1@hotmail.com

<sup>2</sup>Grupo de pesquisa em Neurobiotecnologia da Universidade Federal de Pelotas –  
nandinha\_sousa4@hotmail.com; rodolfotga@hotmail.com; nanaa.fronza@gmail.com

<sup>3</sup>Grupo de pesquisa em Neurobiotecnologia da Universidade Federal de Pelotas –  
luciellisavegnago@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Laboratório de síntese orgânica limpa da Universidade Federal de Pelotas –  
renata.balaguez@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A depressão é um transtorno neuropsiquiátrico que afeta cerca de 4,4% da população, apresentando elevada taxa de morbidade e mortalidade. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, estima-se que 320 milhões de pessoas sofrem de depressão em todo o mundo (OMS, 2013).

O transtorno tem como características a anedonia, fadiga, mudanças no apetite, irritabilidade, ganho ou perda de peso, podendo também levar a sintomas de ansiedade e distúrbios de sono (Kapfhammer, 2006). Esta patologia é comumente tratada com antidepressivos, todavia em muitos casos os medicamentos se mostram pouco efetivos para tratar o transtorno (Sairanen, 2005) e podem apresentar inúmeros efeitos adversos. Com isso, há um grande interesse na busca de novos tratamentos para esta doença. Nesse sentido, compostos orgânicos de selênio têm sido investigados, visto que apresentam aspectos farmacológicos promissores (Chagas et al., 2017). Dessa forma, vale destacar a molécula  $\alpha$ -fenilselênio acetofenona (PSAP) que tem demonstrado muitas atividades farmacológicas como: atividade antioxidante, tipo-antidepressiva, ansiolítica e antinociceptivo em modelos animais (Gerzson et al., 2012; Sousa et al., 2017; Sousa et al., 2018).

Assim sendo, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade tipo-antidepressiva, bem como seu efeito sobre a atividade das enzimas catalase (CAT) superóxido dismutase (SOD) da PSAP em camundongos induzidos com fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ).

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1. Moléculas

A PSAP (Fig. 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas. A dose utilizada foi de 10 mg/Kg, diluídos em óleo de canola, administrado pela via intragástrica (i.g.) 30 minutos antes dos ensaios comportamentais. Nesse estudo também foi utilizado o TNF- $\alpha$  (0,1 fg/5 $\mu$ L) administrado pela via intracerebroventricular (i.c.v.) para induzir o comportamento do tipo-depressivo.

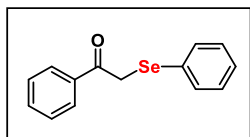
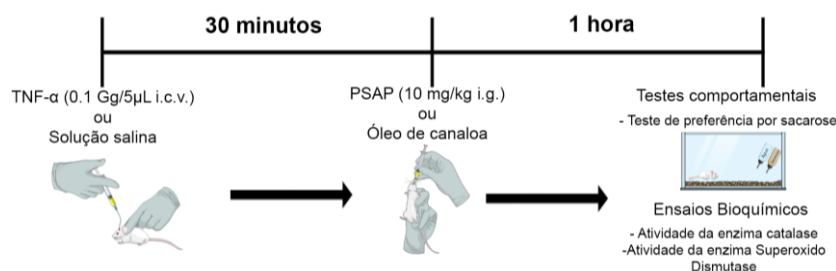


Fig 1. Estrutura química da  $\alpha$ -fenilselênio acetofenona (PSAP).

## 2.2 Animais

Para a realização deste trabalho, foram utilizados camundongos Swiss albinos machos, pesando entre 25 e 30g, provenientes do Biotério Central, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFPEL (8328-2017).

## 2.3 Esquema de ensaios



**Fig. 2.** Protocolo esquemático da administração da PSAP em camundongos submetidos a injeção de TNF-α.

## 2.4 Teste de preferência por sacarose

A anedonia foi medida através do teste de preferência por uma solução de sacarose sobre a água (Shi et al., 2010). Os camundongos foram apresentados simultaneamente a duas garrafas, uma contendo uma solução de sacarose 2% e outra com água. Os animais tiveram livre escolha entre as duas garrafas durante 24 horas. Logo após, foi verificado o consumo nas duas garrafas e a preferência por sacarose foi calculada pela fórmula: consumo de sacarose/(consumo de sacarose + consumo de água)×100%.

## 2.5 Preparação dos tecidos

O efeito da PSAP sobre a atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) foi determinada no córtex cerebral e em hipocampo de camundongos. Os tecidos de córtex e o hipocampo de um grupo diferente de animais, foram removidos, pesados e homogeneizados em Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 (1/4, peso/volume), e centrifugados a 2,400g a 4 ° C por 15 min. A fração de sobrenadante de baixa velocidade (S<sub>1</sub>) foi coletada e usada para análises de estresse oxidativo.

### 2.5.1 Atividade das enzimas CAT e SOD

A atividade da enzima CAT foi avaliada observando-se o consumo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em sobrenadante de tecido de S<sub>1</sub> utilizando um espectrofotômetro. A reação enzimática iniciou-se com uma alíquota de S<sub>1</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na concentração de 0,3 mM em um meio contendo 50mM de tampão fosfato pH 7,0. A atividade enzimática foi medida com unidades internacionais (IU) por miligrama de proteína (1 IU decompõem 1 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto no pH 7,0 a 25 °C).

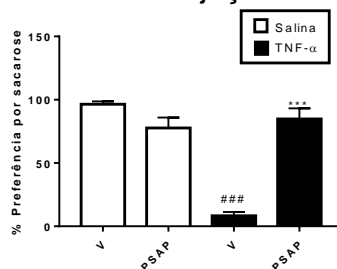
Neste sentido, a atividade da enzima SOD foi avaliada através da inibição da auto oxidação da epinefrina em S<sub>1</sub>. Alíquotas de S<sub>1</sub> foram adicionadas a uma solução tampão de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) pH 10,3 a 50 mM e a reação iniciou-se com a adição de epinefrina. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade necessária para inibir a velocidade de auto oxidação da epinefrina em 50% a 26°C.

## 2.6 Análise estatística

Todos os dados experimentais são expressos pela média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). As comparações entre os experimentos foram realizadas por análise de variância (ANOVA) de uma via utilizando o teste de Newman-Keuls quando necessário. Foram considerados estatisticamente relevantes valores de probabilidade menores que 0,05 ( $p \leq 0,05$ ).

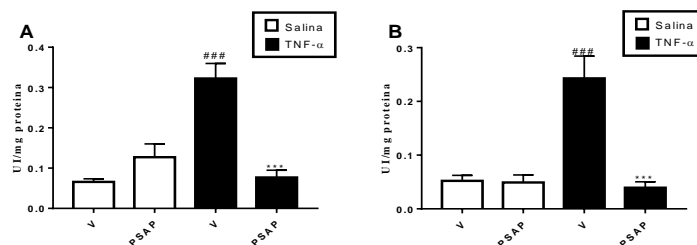
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A administração de TNF- $\alpha$  diminuiu a preferência por sacarose de camundongos (Fig. 3) quando comparado ao grupo veículo e o o tratamento com a PSAP reverteu esse quadro aumentando a preferência por sacarose quando comparado com o grupo que recebeu a injeção de TNF-  $\alpha$ .



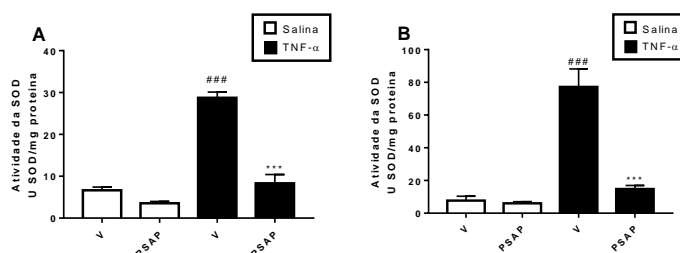
**Fig. 3.** Efeito da PSAP no teste de preferência por sacarose em camundongos que receberam o TNF- $\alpha$ . Cada coluna representa a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Cada grupo contém 6-7 animais. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls, quando apropriado. ### $p < 0,001$  comparado com o grupo veículo e \*\*\* $p < 0,001$  comparado com o grupo TNF-  $\alpha$ . Abreviações: PSAP:  $\alpha$ -(fenilseleno) acetofenona; V: Veículo; TNF-  $\alpha$ : Fator de necrose tumoral- $\alpha$ .

A enzima CAT (Fig. 4) teve sua atividade aumentada em córtex cerebral (4A) e hipocampo (4B) de camundongos que receberam TNF- $\alpha$  quando comparados com o grupo que recebeu salina. A administração da PSAP reverteu esse efeito.



**Fig. 4.** Efeito da PSAP na atividade da enzima CAT em córtex cerebral (A) e hipocampo (B) de camundongos induzidos com TNF-  $\alpha$ . A Atividade da CAT é expressa em U/mg de proteína. Cada coluna representa a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Cada grupo contém 5 animais. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls, quando apropriado. ### $p < 0,001$  comparado com o grupo veículo e \*\*\* $p < 0,001$  comparado com o grupo TNF-  $\alpha$ . Abreviações: PSAP:  $\alpha$ -(fenilseleno) acetofenona; V: Veículo; TNF-  $\alpha$ : Fator de necrose tumoral- $\alpha$ ; CAT: Catalase.

A enzima SOD (Fig. 5) teve sua atividade aumentada em córtex cerebral (5A) e hipocampo (5B) de camundongos que receberam TNF- $\alpha$  quando comparados com o grupo que recebeu salina. A administração da PSAP reverteu esse efeito.



**Fig. 5.** Efeito da PSAP na atividade da enzima SOD em córtex cerebral (A) e hipocampo (B) de camundongos induzidos com TNF- $\alpha$ . A Atividade da SOD é expressa em U SOD/mg de proteína. Cada coluna representa a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Cada grupo contém 5 animais. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls, quando apropriado.  $^{###}p < 0,001$  comparado com o grupo veículo e  $^{***}p < 0,001$  comparado com o grupo TNF- $\alpha$ . *Abreviações:* PSAP:  $\alpha$ -(fenilselano) acetofenona; V: Veículo; TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral- $\alpha$ ; SOD: Superóxido Dismutase.

#### 4. CONCLUSÕES

Visto isso, a PSAP aumentou a preferência por sacarose, demonstrando assim seu potencial tipo-antidepressivo em modelo de TNF- $\alpha$ . Somando-se a isso, a PSAP diminuiu a atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD em córtex cerebral e hipocampo. Assim, a PSAP apresenta efeito do tipo antidepressivo e seu mecanismo de ação pode estar relacionado a sua ação antioxidante. Logo, a PSAP pode vir a se tornar uma molécula promissora para o tratamento da depressão.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sousa, Fernanda S.S.; Birmann, Paloma Taborda; Baldinotti, Rodolfo; Fronza, Mariana G.; Balaguez, Renata; Alves, Diego; Brüning, César Augusto; Savegnago, Lucielli.  $\alpha$ - (phenylselanyl) acetophenone mitigates reserpine-induced pain-depression dyad: Behavioral, biochemical and molecular docking evidences. **Brain Research Bulletin**, v. 142, p. 129-137, 2018.
- Sousa, Fernanda S.S.; Anversa, Roberta G.; Birmann, Paloma T.; de Souza, Maurice N.; Balaguez, Renata; Alves, Diego. Contribution of dopaminergic and noradrenergic systems in the antinociceptive effect of  $\alpha$ - (phenylalanyl) acetophenone. **Pharmacological reports**, v. 142, n. 5, p. 871-877, 2017.
- Sousa, Fernanda S.S.; Birmann, Paloma Taborda; Balaguez, Renata; Alves, Diego; Brüning, César Augusto; Savegnago, Lucielli.  $\alpha$  -(phenylselanyl) acetophenone abolishes acute restraint stress induced-comorbid pain, depression and anxiety-related behaviors in mice. **Neurochemistry international**, v. 120, n. 5, p. 112-120, 2018.
- Gerzson, Mariana Freire Barbieri; Victoria, Francine N.; Radatz, Cintia S.; De Gomes, Marcelo G.; Boeira, Silvana P.; Jacob, Raquel G.; Alves, Diego; Jesse, Cristiano Ricardo; Savegnago, Lucielli. In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone in mice. **Pharmacology biochemistry and behavior**, v. 120, n. 1, p. 21-29, 2012.
- WHO Report by the secretariat. Global burden of mental disorders and the need for a 1690 comprehensive, coordinated response from health and social sectors at the country 1691 level. Executive board EB 130/9; (130th session, Provisional agenda item 6.2), 2013.
- Chagas, Pietro Maria; Fulco, Bruna da Cruz Weber; Pesarico, Ana Paula; Roehrs, Juliano Alex; Nogueira, Cristina Wayne. Bis(phenylimidazoselenazoly) diselenide elicits antinociceptive effect by modulating myeloperoxidase activity, NOx and NFkB levels in the collagen-induced arthritis mouse model. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, p. 1022-1032. 2017.
- Sairanen, Mikko; Lucas, Guilherme; Ernfors, Patrik; Castrén, Maija; Castrén, Eero. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. **Journal of neuroscience**, v. 25, n. 5, p. 1089-1094, 2015.
- Shi, Miao; Wang, Jin-yan; LUO, Fei. Depression shows divergent effects on evoked and spontaneous pain behaviors in rats. **Journal of pain**, v. 11, n. 3, p. 219-229, 2010.
- Kapfhammer, Hans-Peter. Somatic symptoms in depression. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 8 n. 2 p.227-239, 2006.